

## 초임계 이산화탄소에 의한 난황분의 추출

임상빈<sup>†</sup> · 작미경 · 고영환 · 유익종\*

제주대학교 식품공학과  
\*한국식품개발연구원

### Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Dried Egg Yolk

Sang-Bin Lim<sup>†</sup>, Mi-Kyung Jwa, Young-Hwan Ko and Ick-Jong Yoo\*

Dept. of Food Science and Technology, Cheju National University, Cheju 690-756, Korea

\*Korea Food Research Institute, Songnam 463-420, Korea

#### Abstract

Investigations were performed on the effects of extraction temperature, pressure, time on solubility and selectivity of egg yolk lipid and cholesterol, and color and fatty acid composition of the residue in supercritical carbon dioxide(SC-CO<sub>2</sub>) extraction. Lipid and cholesterol solubility increased as the increase of CO<sub>2</sub> density and was found to strongly depend on the extraction pressure rather than the extraction temperature. The relative concentration of cholesterol in the extract increased with an increase in temperature and decreased with an increase in pressure and extraction time. Extraction of dried egg yolk for 3hr at 40°C/276 bar removed 46.1% of cholesterol from the residual egg yolk with a yield of 63.2%. SC-CO<sub>2</sub> extraction produced a lighter color egg yolk with less redness and yellowness. As the extraction time increased, the resultant residual egg yolk became more saturated with fatty acids. SC-CO<sub>2</sub> extraction offers a safe, natural method for removing cholesterol from dried egg yolk.

**Key words:** egg yolk, cholesterol, supercritical fluid extraction, fatty acid composition

#### 서 론

계란은 양질의 단백질, 비타민, 무기질을 함유하고 있고, 용이한 소화도, 저렴한 단백질 가격, 우수한 향미, 다양한 부재료로의 용도로 인하여 완전식품임으로 알려져 있다. 그러나 계란에 다량 함유되어 있는 포화지방산과 콜레스테롤이 관상성 심장병 및 고지혈증 등의 발병에 한 요인으로 작용한다는 각종 역학적 연구가 발표되고 있고(1,2), 또한 American Heart Association에서도 이와같은 질병의 예방을 위해서는 하루에 섭취하는 콜레스테롤량을 300mg 이하로 권장하고 있음에(3) 따라 계란의 소비량은 감소 추세에 있다.

이를 극복하기 위하여 계란 중의 콜레스테롤 함량을 낮추는 기술이 개발되고 있는데, 이에는 사료의 조성을 변화시켜준다든지, 콜레스테롤의 흡수, 배설 및 합성과정을 저해시키는 약물을 닭에게 투여하므로써 저콜레스테롤 계란을 생산하는 사양학적인 방법(4)과 계란을

흡착제, 효소, 유기용매 등으로 처리하여 콜레스테롤을 제거하는 물리, 화학적 방법(5-8)이 있다. 그런데 물리, 화학적 방법은 콜레스테롤 제거율이 낮음은 물론 계란의 구성 지질인 인지질도 제거하며, 단백질을 변성시키므로써 계란의 기능적, 관능적 성질을 저해하는 문제점이 있다. 특히 유기용매로 추출하면 지방으로부터 콜레스테롤을 선택적으로 제거하기 어렵고, 유기용매의 잔류가능성이 높으며, 사용용매의 가격이 비싸다는 단점을 가지고 있다. 따라서 계란 중의 콜레스테롤만 선택적으로 제거하면서 기능성과 관능적 성질을 변화시키지 않는 기술의 개발이 시급하다. 이때 고려할 사항으로는 계란 중의 protein fragmentation과 oligomerization에 관여하는 효소의 열변성 온도는 중성과 알칼리성 pH에서 lysozyme은 약 75°C이고, ribonuclease는 약 60°C이므로(9) 단백질 변성을 방지하기 위해서는 가능한 저온에서 가공하여야 한다. 또한 계란 중의 인지질이 제거되지 않는 추출방법이 바람직하다.

<sup>†</sup>To whom all correspondence should be addressed

초임계 유체는 식품으로부터 콜레스테롤을 선택적으로 추출하는데 이용되어 왔다(10,11). 콜레스테롤 분자는 free hydroxy group을 가지고 있으므로 지방에 비하여 비교적 극성을 띠며, 분자량이 두배 이상 크기 때문에 지방으로부터 선택적으로 제거될 수 있다 초임계 유체 추출은 한 단계로(one-step extraction and separation) 지방과 콜레스테롤을 추출할 수 있고, 지방을 지방산 조성이 다른 분획으로 분별할 수 있다는 장점을 가지고 있다. 또한 초임계 유체는 온도가 낮을수록 밀도가 높아 추출에 용이하므로, 계란을 단백질 변성에 관여하는 효소의 열변성 온도보다 저온에서 초임계 이산화탄소로 가공할 경우 단백질 변성을 방지할 수 있을 것으로 기대된다. 또한 인지질은 극성인 반면 추출용매인 이산화탄소는 비극성이므로 인지질이 계란으로부터 추출되지 않고 추출잔류물에 남아있을 것으로 기대된다.

한편 계란으로부터 콜레스테롤을 추출할 때 시료로서 전란이나 난황액보다는 수분이 적은 난황분이 유리한데, Novak 등(12)은 난황액을 35°C/241 bar에서 추출하였을 때 추출과정 중 난황액 일부가 응고되었는데, 이는 난황으로부터 계란유와 수분이 추출됨에 따라 추출잔류물의 점도가 증가되어 결국 잔류되어 있는 단백질과 인지질이 응고되었거나, 또는 초임계 이산화탄소가 계란 단백질의 겔화 또는 변성을 일으키기 때문인 것으로 추정하고 있다.

따라서 본 연구는 난황분을 초임계 이산화탄소로 40~60°C, 207~345 bar, 1~3시간 추출하여 난황 지방과 콜레스테롤의 용해도, 선택도 및 추출잔류물의 색도, 지방산 조성을 측정하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용한 난황분은 Canadian Inovatech Inc. (Abbotsford, Canada) 제품으로 입자크기는 100 mesh 이하였고, 수분 함량은 4.5%였다.

### 초임계 이산화탄소에 의한 난황분의 추출

본 실험에 사용한 초임계 유체 추출장치(Autoclave Engineers, Inc. #08U-06-60-FS)는 최대 압력이 413 bar까지 사용 가능한 연속 유통형으로 개략도는 Fig. 1과 같다.

먼저 추출조(EV)의 뚜껑을 열고 난황분 20g를 주입하였다. 탄산가스는 실린더(TK)로부터 check valve(CV)를 거쳐 고압 피스톤펌프(HPP)에 의해 가압되었다. 이

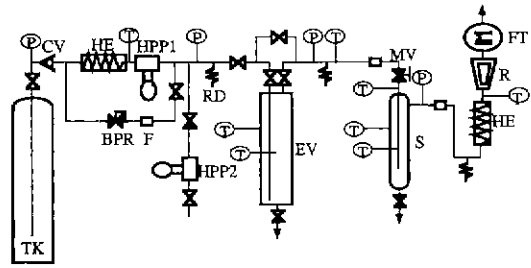


Fig 1. Flow diagram of supercritical fluid extraction system.

BPR: Back pressure regulator, CV Check valve, EV, Extraction vessel, F, Filter, FT Flow totalizer, HE Heat exchanger, HPP High pressure pump, MV Metering valve, P Pressure gauge, R Rotameter, RD Rupture disk, S Separator, T Temperature indicator, TK: Carbon dioxide tank

때 탄산가스 주입부의 공동화 현상을 방지하기 위하여 -20°C 냉각조(HE)를 설치하여 이산화탄소의 기화를 방지하였다. 가압된 이산화탄소는 역압 조절기(BPR)에 의하여 압력이 조절되었고 압력계(P)에 의해 압력이 측정되었고 추출조로 이송되었다. 추출조의 내용적은 300ml이고, 온도는 비례형 온도조절기에 의하여 조절되었으며 열전쌍온도계(T)에 의하여 측정되었다 일정 압력과 온도에서 정상상태로 유지시킨 후 추출조 출구로 나가는 고압의 혼합물은 가온된 metering valve(MV)를 통하여 분리조(S)에서 대기압으로 감압, 팽창되면서 탄산가스와 추출물로 분리되었다. 이때 통과되는 탄산가스의 유량은 rotameter(R)에 의하여 측정되었고 적산부피는 totalizer(FT)에 의하여 측정되어진 후 대기 중으로 방출되었다.

실험변수로 추출온도는 40~60°C, 압력은 207~345 bar, 추출시간은 1~3시간이었고, 이산화탄소의 유속은 4L/min였다 일정 온도, 압력 조건에서 일정 시간 동안 추출한 후 추출되지 않고 잔류되어 있는 난황분 추출잔류물을 수거하여 칭량한 후 콜레스테롤 함량, 색도, 지방산 조성을 측정하였다.

### 콜레스테롤 분석

추출잔류물의 콜레스테롤 함량은 cholesterol oxidase 방법(13)을 이용하여 측정하였다.

### 색도 측정

추출잔류물의 색깔은 색차계(color and color difference meter, model TC-1, Tokyo Denshoku Co., LTD, Japan)로 측정하여 L(명도), a(적색도), b(황청도)값으

로 나타내었다.

### 지방산 분석

추출잔류물의 지방산 조성은 GC(Hewlett-Packard 5890 series II)에 의하여 분석하였으며, column은 DB™-Wax capillary(30m×0.25mm i.d.; Supelco, Inc., Bellefonte, PA, USA)를 사용하였고, 온도는 200°C를 유지하였다. 검출기는 FID를 사용하였고, 주입구 및 검출기의 온도는 250, 300°C로 유지하였다. 운반기체로서 질소가스는 split ratio를 1:100으로 주입하였다.

## 결과 및 고찰

### 이산화탄소의 밀도에 따른 난황 지방과 콜레스테롤의 용해도

Fig. 2는 난황분을 여러 온도와 압력에서 한시간 동안 추출하였을 때 이산화탄소의 밀도에 따른 난황 지방과 콜레스테롤의 용해도를 나타내고 있다. 초임계 이산화탄소에 대한 지방과 콜레스테롤의 용해도는 이산화탄소의 밀도 증가에 따라 증가하였는데, 이는 일반적으로 용해도는 이산화탄소의 밀도에 비례하여 증가하기 때문이다(10,11). 추출압력 207 bar에서 추출온도를 40(밀도: 0.852g/cm<sup>3</sup>), 50(0.798), 60°C(0.738)로 달리하였을 때 용해도는 서서히 증가하였으나, 추출온도 40°C에서 추출압력을 276(0.905), 345 bar(0.940)로 달리하였을 때 용해도는 급격히 증가하였다. 이로 보아 난황 지방과 콜레스테롤의 용해도는 추출온도보다는 추출압력에 의하여 크게 좌우되는 것으로 판명되었다. Shishikura 등(14)도 유지방의 용해도를 측정할 결과 40°C/150 bar에서 0.41%(wt/wt)였지만 추출압력을 300 bar

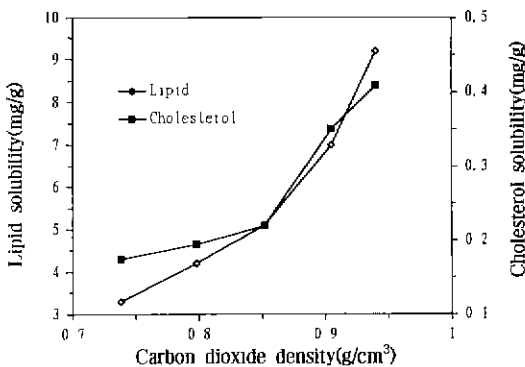


Fig. 2. Solubility of lipid and cholesterol in egg yolk as a function of CO<sub>2</sub> density.

로 2배 증가시켰을 때 1.88%로 4.6배 증가하였다고 보고하였다.

지방과 콜레스테롤의 용해도 증가 현상을 비교하여 보면 이산화탄소의 밀도 0.852g/cm<sup>3</sup>을 기점으로 다르게 나타났는데, 저밀도 영역에서는 콜레스테롤의 용해도가 지방의 용해도보다 높다가, 고밀도 영역에서는 거의 유사하게 증가하는 현상을 보였다. 이는 저밀도의 이산화탄소에 용해되는 저급지방산에 대하여 콜레스테롤의 친화도가 높아 선택적으로 많이 추출되다가, 고밀도에서는 이산화탄소의 높은 용해 능력으로 인하여 지방과 콜레스테롤이 동시에 많이 추출되었기 때문이다. 따라서 추출물의 상대적 콜레스테롤 농도는 추출온도의 증가에 따라 증가하였고, 추출압력의 증가에 따라 감소하였다.

난황을 이산화탄소의 밀도 0.738, 0.798, 0.852, 0.905, 0.940g/cm<sup>3</sup>에서 추출하였을 때 추출잔류물의 수율은 각각 92.6, 90.6, 88.5, 84.3, 79.2%였으며, 콜레스테롤 제거율은 각각 11.9, 12.3, 13.2, 25.4, 28.5%로, 이산화탄소의 밀도 증가에 따라 추출잔류물의 수율은 감소된 반면 콜레스테롤 제거율이 증가하였는데, 이는 용해도 증가에 따라 지방과 콜레스테롤이 많이 추출되었기 때문이다. Bulley와 Labay(15)도 난황분을 360 bar에서 추출온도를 75°C에서 55°C로 감소시켰을 때 즉 이산화탄소의 밀도를 증가시켰을 때 난황분의 용해도는 1.45배 증가하였다고 보고하였다.

### 추출온도에 따른 콜레스테롤의 선택도

추출공정에서 분리효율을 극대화하기 위하여 선택도(selectivity)라는 개념이 도입되는데, 선택도는 분리 대상이 되는 두성분의 추출물과 추출잔류물에서의 농도 비로 나타낸다. Fig. 3은 추출압력 207 bar에서 추출온도에 따른 이산화탄소에 대한 콜레스테롤의 선택도를 나타내고 있다. 동일 압력에서 추출온도의 증가에 따라 선택도가 증가하였는데, 이는 온도 증가 즉 밀도 감소에 따라 콜레스테롤에 비하여 지방의 용해도가 상대적으로 감소하였기 때문이다.

Lim과 Rizvi(11)도 추출온도와 압력을 달리하여 유지방을 추출하였을 때 고온과 저압 즉 저밀도의 이산화탄소에 대하여 콜레스테롤의 선택도가 높았다고 보고하였고, Majewski 등(16)도 이산화탄소에 대한 유지방의 콜레스테롤 선택도는 온도 증가에 따라 증가하였다고 보고하였다. 본 연구에서는 추출온도와 압력이 60°C/207 bar에서 선택도가 2.83였다. Krukonis(10)도 버터 중의 콜레스테롤의 이산화탄소에 대한 선택도는 60°C/150 bar에서 3.89인 반면, 80°C/155 bar에서 5.73

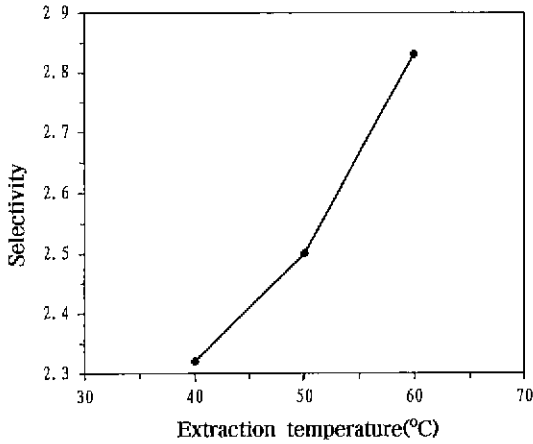


Fig. 3. Carbon dioxide selectivity for cholesterol from egg yolk at 207 bar as a function of extraction temperature.

으로 온도 증가에 따라 증가하였다고 보고하였다.

추출시간에 따른 난황 지방과 콜레스테롤의 용해도

Fig. 4는 40°C/276 bar에서 추출시간에 따른 난황 지방과 콜레스테롤의 용해도 변화를 나타내고 있다. 지방의 용해도는 추출 2시간까지는 거의 유사하였으나, 그 이후에는 급격히 감소하였다. 이와같은 현상은 추출대상물질의 조성이 추출시간에 따라 변화하기 때문에 일어나며, 짧은 추출시간에는 용해도가 높은 저급지방산으로 구성된 지방이 많이 추출되어 용해도가 높은 반면, 추출시간이 길어질수록 추출잔류물에 용해도가 낮은 고급포화지방산으로 구성된 지방이 농축되어 용해도가 낮아지는 것이다. 콜레스테롤 또한 초임계유체에

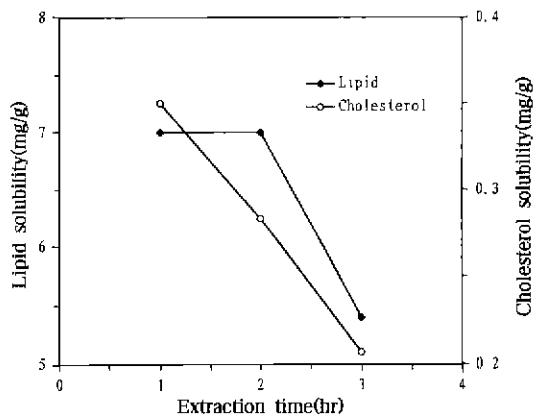


Fig. 4. Solubility of lipid and cholesterol in egg yolk at 40°C/276 bar as a function of extraction time.

서의 농도가 급격히 감소하였는데, 이는 추출잔류물에서의 콜레스테롤 함량이 감소하였기 때문이다.

추출시간에 따른 추출잔류물의 수율은 추출시간 1, 2, 3시간에서 각각 84.3, 68.3, 63.2%였으며, 콜레스테롤 제거율은 각각 25.4, 41.7, 46.1%였는데, 이는 추출시간의 증가에 따라 이산화탄소의 소비량이 증가하므로 추출량이 증가하기 때문이다. 따라서 난황분을 40°C/276 bar에서 3시간 추출하였을 때 콜레스테롤이 46.1% 제거된 난황 63.2%를 얻을 수 있었다.

이산화탄소의 밀도와 추출시간에 따른 난황 추출 잔류물의 색도 변화

Table 1과 2는 각각 이산화탄소의 밀도와 추출시간에 따른 추출잔류물의 색깔 변화를 나타내고 있다. 이산화탄소의 밀도와 추출시간이 증가할수록 L값은 증가하였으나 a와 b값은 감소하여, 적색과 황색이 많이 추출되었으며 결국 추출잔류물의 색깔이 밝아지고 있음을 보여주고 있다. 이는 이산화탄소의 밀도가 높을수록, 추출시간이 증가할수록 초임계 이산화탄소에 의하여 난황의 carotenoids와 xanthophyll 색소가 보다 많이 추출되었기 때문이다. Favati 등(17)은 초임계 이산화탄소에 의하여 leaf protein concentrates로부터 carotenoids와 lutein이 추출되었고, 임과 좌(18)도 초임계 이산화탄소에 의하여 당근으로부터 carotenoids가 추출되었다고 보고하였다

Table 1. Effect of CO<sub>2</sub> density on color values of the residue in supercritical CO<sub>2</sub> extraction of dried egg yolk

CO <sub>2</sub> density (g/cm <sup>3</sup> )	Color value		
	L	a	b
Control	79.30	2.93	33.38
0.738	80.65	2.83	32.63
0.798	81.24	2.77	32.53
0.852	81.38	2.57	32.18
0.905	82.65	2.45	32.28
0.940	83.03	2.53	31.79

Table 2. Effect of extraction time on color values of the residue in supercritical CO<sub>2</sub> extraction of dried egg yolk

Extraction time (hr)	Color value		
	L	a	b
Control	79.39	2.93	33.38
1	82.23	2.75	32.55
2	84.39	2.02	29.20
3	84.47	2.12	28.99

Extraction temperature/pressure. 40°C/276 bar

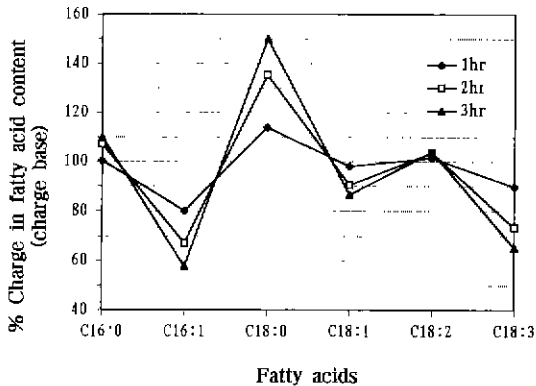


Fig. 5. Profiles of fatty acid content in the residues as a function of extraction time.

#### 추출시간에 따른 추출잔류물의 지방산 조성 변화

난황을 초임계 이산화탄소로 추출하면 지방의 구성 지방산 종류에 따라 초임계 이산화탄소에 대한 용해도가 다르기 때문에 지방산 조성이 다른 지방 분획을 얻을 수 있을 것으로 기대된다. 탄소수가 적고, 극성이 낮은 지방산으로 구성된 지방일수록 초임계 이산화탄소에 대하여 용해도가 높기 때문에 추출시간에 따라 추출 잔류물의 지방산 조성에 변화를 주게 된다.

Fig. 5는 40°C/276 bar에서 추출시간을 달리하여 난황분을 추출하였을 때 추출잔류물의 지방산 조성변화를 나타내고 있다. 추출시간의 증가에 따라 포화지방산인 C16:0과 C18:0 함량은 증가하였으나, 불포화지방산인 C16:1, C18:1, C18:3은 감소하였다. 3시간 동안 추출하였을 때 추출잔류물의 C18:0은 150% 증가한 반면, C16:1과 C18:3은 각각 58, 65%로 감소하였다. 즉 추출시간의 증가에 따라 불포화지방산들은 많이 추출되어 추출잔류물에서의 그 조성이 낮아짐을 보여주고 있으며, 그 반대로 포화지방산들은 적게 추출되어 추출잔류물에 농축되고 있음을 보여주고 있다. 이는 초임계 이산화탄소가 난황의 불포화지방산을 선택적으로 추출하기 때문인 것으로 추정되며, Froning(19)의 연구결과와 일치하고 있다.

#### 요 약

난황분을 초임계 이산화탄소로 추출온도, 압력, 시간을 달리하여 추출하여 난황 지방과 콜레스테롤의 용해도와 선택도 및 추출잔류물의 색도, 지방산 조성을 측정하였다. 초임계 이산화탄소에 대한 지방과 콜레스테롤의 용해도는 이산화탄소의 밀도 증가에 따라 증가하였는데, 추출온도보다는 추출압력에 의하여 크게 좌

우되었다. 이산화탄소에 대한 콜레스테롤의 선택도는 동일 압력에서 추출온도의 증가에 따라 증가하였다. 난황분을 40°C/276 bar에서 3시간 추출하였을 때 콜레스테롤이 46.1% 제거된 난황 63.2%를 얻을 수 있었다. 이산화탄소의 밀도와 추출시간이 증가할수록 적색과 황색이 많이 추출되어 추출잔류물의 색깔이 밝아졌다. 추출시간의 증가에 따라 불포화 지방산들은 많이 추출되었고, 포화지방산들은 추출잔류물에 농축되었다.

#### 감사의 글

이 논문은 농림수산부에서 시행한 농림수산물특정연구사업의 연구결과로 이에 감사드립니다.

#### 문 헌

1. Wood, D. A., Butler, S., Riemersma, R. A., Thomson, M., Oliver, M. F., Fultone, M., Birtwhistle, A. and Elton, R. : Adipose tissue and platelet fatty acids and coronary heart disease in scottish men *The Lancet*, July 21, 117(1984)
2. Stamler, J. and Skekelle, R. : Dietary cholesterol and human coronary heart disease. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, **112**, 1032(1988)
3. American Heart Association ' *Dietary guideline for healthy American adults*. Dallas, Texas, p.1(1986)
4. Hargis, P. S. : Modifying egg yolk cholesterol in the domestic fowl—a review. *Words Poultry Sci. J.*, **44**, 17(1988)
5. Larsen, J. E. and Froning, G. W. : Extraction and processing of various components from egg yolk. *Poultry Sci.*, **60**, 160(1981)
6. Warren, M. W., Ball, H. R. J., Froning, G. W. and Davis, D. R. : Lipid composition of hexane and supercritical carbon dioxide reduced cholesterol dried egg yolk. *Poultry Sci.*, **70**, 1991(1991)
7. Smith, D. M., Awad, A. C., Bennink, M. R. and Gill, J. L. : Cholesterol reduction in lipid egg yolk using  $\beta$ -cyclodextrin *J. Food Sci.*, **60**, 691(1995)
8. Bringe, N. A., Howard, D. B. and Clark, D. R. : Emulsifying properties of low-fat, low-cholesterol egg yolk prepared by supercritical CO<sub>2</sub> extraction *J. Food Sci.*, **61**, 19(1996)
9. Arntfield, S. D., Bulley, N. R. and Crerar, W. J. : Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of egg yolk: impact of temperature and entrainer on residual protein. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **69**, 823(1992)
10. Krukoni, V. J. : ' Supercritical fluid processing: current research and operation ' In " *First international symp. on supercritical fluids* " Perrut, M.(ed.). Nice, France, p.541(1988)
11. Lim, S. and Rizvi, S. S. H. : ' Continuous cocurrent extraction of milk fat by supercritical carbon dioxide *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **23**, 459(1994)

12. Novak, R. A., Reihler, W. J., Pasin, G., King, A. J. and Zeidler, G. : Supercritical fluid extraction of cholesterol from liquid egg. In *"Fat and cholesterol reduced foods"* Haberstron, C. and Morris, C. E.(eds.), Gulp Publishing Co., Houston, p.289(1991)
13. Boehringer Mannheim : *Methods of enzymatic bioanalysis and food analysis*. Mannheim, Germany, p.18 (1995)
14. Shishikura, A , Fujimoto, K., Kaneda, T., Arai, K. and Saito, S. : Modification of butter oil by extraction with supercritical carbon dioxide. *Agr. Biol. Chem.* **50**, 1209 (1986)
15. Bulley, N. R. and Labay, L. ' Extraction/fractionation of egg yolk using SC-CO<sub>2</sub> and alcohol entrainers. In *"Proceedings 2nd international symposium on supercritical fluids"* McHugh, M A (ed ), Boston, Massachusetts, p.10(1991)
16. Majewski, W., Mengal, P., Perrut, M. and Ecalard, J. P. : Supercritical fluid fractionation of butter oil. In *"Supercritical fluid processing of food and biomaterials"* Rizvi, S S. H.(ed.). Blackie Academic & Professional, New York, p.123(1994)
17. Favati, F , King, J W , Friedrich, J P. and Eskins, K. ' Supercritical carbon dioxide extraction of carotene and lutein from leaf protein concentrates *J. Food Sci.* **53**, 1532(1988)
18. 임상빈, 좌미경 : 초임계 이산화탄소에 의한 당근 중의 베타카로텐 추출. *한국식품과학회지*, **27**, 424(1995)
19. Froning, G. W. . Supercritical fluid extraction of cholesterol from dried egg. In *"Fat and cholesterol reduced foods"* Haberstron, C and Morris, C E.(eds.), Gulp Publishing Co. Houston. p277(1991)

(1997년 7월 7일 접수)